

2X *L-Exp Taq* HS PCR 预混液

2X *L-Exp Taq* HS PCR Master Mix

Code No. AG11514

包装量: 500 μ l X 3 pc
(60 rxns / 50 μ l)

保存温度: -20 $^{\circ}$ C

➤ 产品概述

本品为即用型 *L-Exp Taq* Enzyme PCR 反应 2 倍浓度的预混液，包含 *L-Exp Taq* HS DNA Polymerase、dNTPs 以及优化的 Buffer 体系，进行 PCR 反应时，只需向预混液中加入模板、引物和水即可进行扩增。这种预混液方案操作简便，可最大限度的减少人为误差，减少多步操作可能带来的污染，在较短时间内即可获得检测结果。

其中的 *L-Exp Taq* enzyme 是利用 LA PCR 原理，精心优化得到的 DNA PCR 反应体系，非常适合长片段和较复杂 DNA 序列的 PCR 扩增。同时在酶体系中还混合了 Taq 单克隆抗体，可以进行 Hot Start PCR。反应开始前抗体会与 Taq 酶结合并抑制其活性，从而可以抑制低温条件下引物非特异性退火或者引物二聚体引起的非特异性扩增。当 PCR 反应开始后，抗体会在最初的 DNA 变性步骤中失活，因此在常规 PCR 反应条件下即可使用。使用本品得到的大部分 PCR 产物 3' 端带有一个 A 碱基，可直接克隆于 T 载体。

➤ 保存

保存温度：-20 $^{\circ}$ C

运输温度：干冰或者 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

➤ 产品组成

2X <i>L-Exp Taq</i> HS PCR Master Mix	500 μ l x 3 pc
RNase free water	1 ml x 2 pc

➤ 实验操作

反应体系¹⁴ (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X <i>L-Exp Taq</i> HS PCR Master Mix ¹¹	1X	25 μ l
Template	≤ 500 ng ²	-
Primer F (10 μ M)	0.2 μ M ³	1 μ l
Primer R (10 μ M)	0.2 μ M ³	1 μ l
RNase free water	-	Up to 50 μ l

*1: 2X *L-Exp Taq* HS Master Mix 使用时，先离心然后再使用，避免酶量损失。

*2: 模板用量一般 ≤ 500 ng；可根据实际需要调整模板用量。

*3: 引物通常使用终浓度为 0.2 μ M；也可根据实际需要要在 0.2~1.0 μ M 范围内调整。

*4: 反应体系建议在冰上配制，最后将配制好的反应液放置于 PCR 仪中反应。

反应条件（以三步法扩增1 kb DNA片段为例⁹⁾

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min ⁵⁾	1
变性	98°C	10 sec ⁶⁾	} 25~35
退火	55°C	30 sec ⁷⁾	
延伸	72°C	1 min / kb ⁸⁾	
最终延伸	72°C	2 min	1

*5: 一般建议将预变性设置为 94°C 30 sec~1 min; 对于复杂模板, 如高 GC 或者长片段, 可尝试延长预变性时间。

*6: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般98°C 5~20 sec 或94°C 30 sec。

*7: 退火温度主要取决于上下游引物的Tm值, 通常可按照 Tm ± 5°C设定。

*8: 延伸温度一般设定为 72°C, 延伸速度 1 min / kb; 同时, 可在 30 sec / kb ~1 min / kb范围内进行调整。

*9: 当引物Tm 值较高或三步法PCR扩增结果不好时, 可尝试两步法PCR扩增(两步法PCR反应程序可参考附录)。

➤ 结果检测

反应结束后, 取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

➤ 附录：两步法程序
反应条件（以两步法扩增1 kb DNA片段为例）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min	1
变性	98°C	10 sec	} 25~35
延伸	68°C	1 min / kb	
最终延伸	72°C	2 min	

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
 For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.